Ueber die

Wirkung einiger photodynamischen Substanzen auf Hefe, Acetondauerhefe und Hefepressaft.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

gesamten Medizin

verfasst und einer

Hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Franz Locher,
geprüfter Medizinalpraktikant aus Tettnang (Württemberg).

München, 1906.
Kgl. Hof- und Universitäts-Buchdruckerei Dr. C. Wolf & Sohn.

Ueber die

Wirkung einiger photodynamischen Substanzen auf Hefe, Acetondauerhefe und Hefepressaft.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

gesamten Medizin

verfasst und einer

Hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Franz Locher,

geprüfter Medizinalpraktikant aus Tettnang (Württemberg).

München, 1906.

Kgl. Hof- und Universitäts-Buchdruckerei Dr. C. Wolf & Sohn.

Gedruckt mit Genehmigung der medizin. Fakultät der Universität München.

Referent: Herr Prof. Dr. H. von Tappeiner.

Meinen lieben Eltern!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552318_0082

Die ersten Versuche über die photodynamische Wirkung fluoreszierender Stoffe wurden mit einem Infusorium, dem Paramecium caudatum gemacht. Es ergab sich, dass fast alle fluoreszierenden Stoffe in Konzentrationen, die im Dunkeln nicht schädigten, die Tiere im Lichte nach kurzer Zeit töten. Pflanzliche Organismen waren widerstandsfähiger gegen diese Einflüsse. Doch war bei den einzelnen Stoffen der photodynamische Wirkungsgrad verschieden. Nur mehrtägige Belichtung schwächte sie, Tötung wurde selten erreicht. Auffallend war, dass einzelne Stoffe, die auf Paramäcien und andere Protozoen sehr stark einwirken, hier fast jede Wirkung vermissen lassen. v. Tappeiner und Jodlbauer wiesen darauf hin, es könne dies seine Erklärung vielleicht darin finden, dass die schützende Membran diese Stoffe am Eindringen hinderte, während sie andere durchdiffundieren liess.

Auch die Frage nach der Einwirkung von photodynamischen Substanzen auf gewisse Zellprodukte war von Interesse. Ferner wurden Versuche gemacht, in denen das Verhalten von Toxinen und Antitoxinen geprüft wurde. Beide Gruppen von Stoffen werden verhältnismässig leicht und schnell zerstört, beziehungsweise unwirksam unter dem Einfluss solcher Substanzen, doch traten auch hierin wieder je nach der Art der Substanzen grosse Verschiedenheiten hervor. Auch Fermente wurden in den Kreis der Beobachtung gezogen, bisher besonders Diastase, Invertin und Labferment. Sie erwiesen sich ebenfalls als recht empfindlich gegen die photo-

dynamische Kraft, auch hier traten bei verschiedenen Stoffen grosse Verschiedenheiten zutage.

Als ich Herrn Professor Dr. v. Tappeiner um ein Thema für meine Doktordissertation bat, hatte er die Güte, mir die Prüfung auf Hefe und der aus ihr hergestellten Produkte, nämlich der Acetondauerhefe und des Hefepresssaftes, zu übertragen.

Die auffallendste Lebensäusserung der Hefe ist die Eigenschaft, unter geeigneten Verhältnissen Zucker zu Alkohol und Kohlensäure zu vergären, doch kann sie sich auch vermehren, ohne dies zu tun. Diese Eigenschaft kann durch Züchtung verloren gehen, die Gärung ist also nicht unbedingt nötig für das Leben und die Vermehrung der Hefe.

Rapp tötete die Hefe mit Aceton ab; das so erhaltene getrocknete Produkt ist unter dem Namen Zymin im Handel. Dieses Zymin hat noch beträchtliche Gärkraft, wenn es auch keine lebenden Zellen mehr enhält.[1])

Wird Hefe mit Kieselgur und Quarzsand vermengt und dann verrieben, so werden die Zellmembranen teilweise zersprengt, und unter genügendem Druck lässt sich ein trüber Saft auspressen, der keine Zellen mehr enthält, aber trotzdem noch vergärende Wirkung zeigt. Es ist jetzt fast allgemein anerkannt, dass die Gärung durch ein Ferment verursacht wird, das Zymase genannt wird und niemals aus der lebenden Zelle heraustritt, aber im Pressaft und im Zymin noch enthalten ist. Leider sind bis jetzt alle Versuche, es rein darzustellen, missglückt.

Vor meinen Versuchen wurden schon über die Beeinflussung der Hefe durch photodynamische Substanzen auf Veranlassung von Professor v. Tappeiner Versuche angestellt von Kurz-

[1]) Näheres über die Darstellung der Acetondauerhefe siehe „Die Zymasegärung“ von E. und M. Buchner und M. Hahn. Seite 266 ff.

mann, der sie demnächst veröffentlichen wird; Herr Kurzmann hat mir sein Manuskript zur Verfügung gestellt, wofür ich ihm an dieser Stelle meinen herzlichen Dank ausspreche. Seine Resultate decken sich mit den meinigen. Ich konnte auch die von ihm als beste gefundene Methode anwenden. Meine Versuche erstrecken sich zunächst über die Beeinflussung der Gärwirkung und des Wachstums der Hefe selbst, dann über die Beeinflussung der Gärwirkung des Zymins und des Hefepressaftes.

Als fluoreszierende Stoffe verwendete ich die zu der Gruppe der Fluoresceine gehörigen Stoffe: Das Eosin (Tetrabromfluorescein), das Tetrachlortetrajodfluorescein (Rose bengale), dann das dichloranthracendisulfosaure Natrium, das zur Gruppe der Phenazine gehörige Phenosafranin und das zu den Phenoxazinen gehörige Methylenblau und zwar immer in aequimolekularen Lösungen.[1])

Die Gärungsversuche über Hefe stellte ich folgendermassen an: 10 g Münchner Presshefe wurden mit 900 g Wasser vermengt, von der leicht getrübten Flüssigkeit 4 Messcylinder mit je 90 ccm gefüllt, zu diesen je 10 ccm einer $^1/_{100}$ molekularen Farbstofflösung zugegeben. Dazu kam noch ein Kontrollversuch, bei dem statt der Farblösung ebensoviel destilliertes Wasser zugesetzt wurde. Als Farbstoffe verwendete ich zum ersten Versuch das dichloranthracendisulfo-

---

[1]) Die Molekulargewichte sind:
vom Fluoresceinnatrium 376,0,
„ Eosin 692,0,
„ Rose bengale 1018,0,
„ Dichloranthracendisulfosauren Natron 451,0,
„ Phenosafranin 322,5,
„ Methylenblau 319,5.
Über die näheren chemischen und physikalischen Eigenschaften dieser Stoffe siehe über „Die Wirkung der photodynamischen Stoffe auf Protozoen und Enzyme“ von H. v. Tappeiner und Jodlbauer. Deutsches Archiv für klinische Medizin, Bd. 80, Seite 432 ff.

saure Natrium, Eosin und Phenosafranin. Von jeder Flüssigkeit wurden nun in zwei Reagensgläschen je 25 ccm gebracht, das eine davon in eine Manschette aus schwarzem Papier gesteckt, dass kein Licht zutreten konnte, die Gläschen gut verkorkt, zugebunden und mit Paraffin abgedichtet. Alle wurden dann auf einer langsam rotierenden, vertikalen Scheibe befestigt und dem diffusen Tageslicht ausgesetzt mit Vermeidung des direkten Sonnenlichtes. Die Exposition fand statt am 4., 5., 6. und 7. Mai, am ersten Tag von 10 Uhr an, an den andern von 8 Uhr morgens bis zum Eintritt der Dämmerung. Das Wetter war meist trüb, am 4., 5. und 7. teilweise sonnig, am 6. schien die Sonne gar nicht, es regnete nie. Am Morgen des fünften Tages brachte ich den Inhalt jedes Reagensglases in ein Meissl'sches Gärkölbchen,[1]) dazu 15 ccm einer 20%igen Traubenzuckerlösung. Durch regelmässige Wägungen wird der Gewichtsverlust bestimmt; dieser kann nur von der entwichenen Kohlensäure herrühren. Die Kölbchen wurden in einen auf 30° Celsius eingestellten Brutschrank gebracht.

Es ergab sich, dass Phenosafranin und Eosin die Gärwirkung im Licht stark hemmten, wenn auch nicht ganz aufhoben; auch im Dunkeln hatten sie einen allerdings nur sehr geringen hemmenden Einfluss. Der Kontrollversuch mit Wasserzusatz ergab eine leichte Hemmung durch das Licht allein. Das Kölbchen mit Phenosafranin, dessen Inhalt dem Licht ausgesetzt war, zeigte sehr geringe Kohlensäureentwicklung, was sich, wie bei Eosin, dadurch äusserlich doku-

[1]) Ein Meissl'sches Gärkölbchen ist ein Erlenmayer'sches Kölbchen, das ein Vorgelege von konzentrierter Schwefelsäure hat, um den übertretenden Wasserdampf abzufangen; alles aus dem Kölbchen entweichende Gas muss durch die Schwefelsäure streichen. Nach aussen ist die Vorlage durch ein sogenanntes Bunsenventil abgeschlossen, einen Gummischlauch, der durch ein Glasstäbchen geschlossen ist und einen feinen Längsschlitz hat; es kann nur Gas heraus, aber keine Luft hereintreten.

mentierte, dass fast keine Schaumbildung stattfand. Als ich es aus dem Brutschrank herausnahm, stieg infolge der Abkühlung Schwefelsäure aus der Vorlage in das Kölbchen zurück und kam so in die Gärflüssigkeit. Dadurch wurde die Gärung unterbrochen. Bei unbelichteten oder bei belichteten Kontrollversuchen mit Wasser trat dies gar nie ein; deshalb glaube ich das Recht zu haben, dem Phenosafranin auch nach diesem Versuch eine photodynamische Wirkung zuzusprechen. Für die übrigen Stoffe ist der Gewichtsverlust aus folgender Tabelle zu ersehen:

Tabelle I.

1 % Hefeausschwemmung, $^1/_{1000}$ molekulare Lösung der Farbstoffe, vier Tage Belichtung, Temperatur 30° Celsius; 15 ccm 20 %ige Traubenzuckerlösung, 25 ccm Hefeflüssigkeit.

Gewichtsverlust in Milligrammen:

nach Stunden	Kontrollversuch		Dichloranthracen		Eosin		Phenosafranin	
	dunkel	belichtet	dunkel	belichtet	dunkel	belichtet	dunkel	belichtet
$3^1/_2$	69,3	54,3	70,4	49,0	62,2	13,4	73,3	—
$8^1/_4$	211,5	164,4	195,0	149,6	167,2	43,1	208,4	—
$20^1/_4$	657,5	633,8	531,7	512,7	526,2	203,5	568,2	—
$26^1/_4$	794,3	671,0	636,6	626,2	643,9	270,9	674,8	—
$31^1/_2$	826,8	771,5	736,2	738,2	756,5	345,5	764,6	—

Setzt man die Menge der in den nicht belichteten Kölbchen entwickelten Kohlensäure gleich 100, so erhält man für die belichteten folgende Werte:

nach Stunden	bei Kontrollversuch	Dichloranthracen	Eosin
$3^1/_2$	78,4	69,6	21,5
$8^1/_4$	77,7	70,6	25,8
$20^1/_4$	96,4	96,4	38,7
$26^1/_4$	84,5	98,4	42,2
$31^1/_2$	93,1	100,2	45,6

Diese Tabelle zeigt auch, dass die Zellen durch die photodynamische Wirkung des Eosins geschädigt waren, aber sich allmählich erholten. Beim Dichloranthracen dagegen war keine Schädigung nachweisbar.

2. Versuch.

Der zweite Versuch wurde mit einer $^1/_{10000}$ molekularen Lösung von Rose bengale und Methylenblau angestellt. Die Belichtungsdauer und Witterung war wieder wie beim ersten Versuch. Es wurden nur 20 ccm Hefeaufschwemmung und entsprechend weniger Zuckerlösung genommen.

Es ergab sich, dass Rose bengale und Methylenblau im Licht die Gärung stark hemmten, die Kontrollprobe ohne Zusatz fluoreszierender Substanz misslang. Von dem Rückstand in den Reagensgläsern wurde je ein Tropfen in sterilisierte Bierwürze gebracht, darüber jedoch später. Die gefundenen Werte gibt

Tabelle II.

20 Hefefarblösung, 12,5 ccm 20 %ige Zuckerlösung, $^1/_{10000}$ molekulare Farblösung, Belichtungsdauer vier Tage. Brutschranktemperatur 30° Celsius.

Gewichtsverlust in Milligrammen:

nach Stunden	Rose bengale		Methylenblau	
	dunkel	belichtet	dunkel	belichtet
6	35,7	7,1	52,6	7,6
$11^1/_2$	75,7	11,0	118,0	9,0
$23^1/_2$	202,4	18,2	236,7	19,9

Dies ergibt für die belichteten Kölbchen folgende Zahlen, wenn wiederum die in dem Dunkeln entwickelte Kohlensäure gleich 100 gesetzt wird.

Stunden	Rose bengale	Methylenblau
6	19,3	14,5
11½	14,5	7,6
23½	9,0	8,0

3. Versuch.

Zum dritten Versuch wurde wieder wie beim ersten 25 ccm Hefeaufschwemmung genommen und 15 ccm 20%ige Zuckerlösung, die Farbstoffe aber nur $^1/_{10000}$ molekular. Es wurden wieder Fluorescein, Rose bengale und Methylenblau verwendet. Die Belichtungsdauer betrug fünf Tage, an den ersten zwei Tagen schien einige Stunden lang die Sonne, die übrigen drei Tage war schlechtes Wetter. Das Ergebnis (Tabelle III) war, dass Rose bengale und Methylenblau recht kräftig wirkten, Fluorescein fast gar nicht. Tötung wurde nicht erreicht.

Tabelle III.

1% Hefeaufschwemmung, $^1/_{10000}$ molekulare Lösung der Farbstoffe, vier Tage Belichtung, Temperatur des Brutschrankes 30° Celsius, 15 ccm 20%ige Traubenzuckerlösung, 25 ccm Hefeflüssigkeit.

Gewichtsverlust in Milligrammen:

nach Stunden	Kontrollversuch		Fluorescein		Rose bengale		Methylenblau	
	dunkel	belichtet	dunkel	belichtet	dunkel	belichtet	dunkel	belichtet
7	47,1	26,3	61,0	38,7	41,3	13,5	48,1	14,0
22	334,8	276,6	325,3	258,8	209,4	26,5	290,1	31,9
30	458,7	402,6	445,1	380,9	297,6	37,7	389,6	36,2
45	628,8	586,2	612,3	449,0	473,4	79,7	425,8	50,0
52	705,6	652,5	681,3	620,0	549,0	101,6	593,8	57,9

Die Prozentzahlen sind demnach:

Stunden	Kontroll-versuch	Fluorescein	Rose bengale	Methylenblau
7	55,8	63,4	32,7	29,1
22	82,6	79,6	12,7	11,0
30	87,8	85,5	12,6	9,3
45	93,2	73,3	16,8	11,8
52	92,5	91,0	18,5	9,8

Über die Beeinflussung des Wachstums der Hefe wurden mehrere Versuche angestellt. Zunächst wurde von Versuch II je ein Tröpfchen aus jedem Reagensgläschen in sterilisierte Bierwürze übertragen, die in liebenswürdiger Weise mir von der Pschorrbrauerei überlassen wurde. Nach 86 Stunden war die aus den unbelichteten Röhrchen stammende Hefe gut gewachsen, ebenso die aus dem belichteten Kontrollröhrchen. Die aus dem Fluorescein stammende Kultur zeigte keine so starke Trübung, die aus Rose bengale war deutlich zurückgeblieben, aus Methylenblau fast gar nichts aufgegangen; abgetötet war die Hefe nirgends. Es wurde dies mikroskopisch konstatiert. Hierauf wurden noch zwei genauere Versuche angestellt. Es wurde ein Teil Bierwürze mit 80 Teilen Wasser vermengt, 9 ccm davon in je ein Reagensgläschen gebracht und mit 1 ccm $^1/_{10000}$ molekularer Lösung von Fluorescein, Rose bengale und Methylenblau versetzt, dazu noch zwei Kontrollröhrchen mit 1 ccm Wasser anstatt der Farblösung versehen, alle Röhrchen sorgfältig sterilisiert und dann ein Tropfen einer Hefereinkultur hereingebracht. Dann wurden unter allen bakteriologischen Kautelen die Gläschen verschlossen und auf einer rotierenden Scheibe befestigt wie bei den vorherigen Versuchen. Die Gläschen wurden nur dem zerstreuten Tageslicht ausgesetzt. Nach vier Tagen wurde in sterile Bierwürze abge-

impft, die ganze Zeit war mit Ausnahme einiger Gewitter am Abend heller Sonnenschein. Die mikroskopische Untersuchung zeigte, dass die Trübung, die in allen Röhrchen aufgetreten war, durch Hefezellen verursacht wurde. Ein zweiter Versuch wurde sechs Tage lang bei gleich gutem Wetter dem Licht wie der erste ausgesetzt, nur ward zur Belichtungsflüssigkeit keine Bierwürze zugesetzt, sondern reines Wasser genommen.

Rose bengale hatte in belichteten Röhrchen abgetötet, Methylenblau im belichteten wie im dunklen, in den übrigen Röhrchen war überall Trübung und Bodensatz, der sich bei der mikroskopischen Untersuchung als Hefe erwies. Ein weiterer Versuch wurde angestellt mit $^1/_{2000}$ molekularer Lösung von dichloranthracendisulfosaurem Natrium, Eosin und Phenosafranin. Die Überimpfung auf Bierwürze liess überall sowohl nach vier als auch nach sechstägiger Belichtung Hefezellen üppig wachsen. Allerdings war der Himmel während dieser sechs Tage meist mit Wolken bedeckt.

Das Ergebnis der letzten zwei Versuche ist in Tabelle IV zusammengestellt.

Tabelle IV.

Lösung		vier Tage Belichtung	sechs Tage Belichtung
Fluorescein . .	$^1/_{10000}$ M.	wenig geschwächt	wenig geschwächt
Rose bengale . .	$^1/_{10000}$ „	geschwächt	abgetötet
Methylenblau . .	$^1/_{10000}$ „	geschwächt	hell wie dunkel abgetötet
Dichloranthracen .	$^1/_{2000}$ „	nicht beeinflusst	nicht beeinflusst
Eosin	$^1/_{2000}$ „	nicht beeinflusst	nicht beeinflusst
Phenosafranin . .	$^1/_{2000}$ „	nicht beeinflusst	nicht beeinflusst

Fassen wir nun das ganze Resultat zusammen, so zeigen diese Versuche, dass Eosin, Rose bengale, Phenosafranin eine ziemlich starke photodynamische Wirkung aufweisen, dass

aber im diffusen Tageslicht sehr schwer nur die Abtötung erreicht wird, Fluorescein und dichloranthracendisulfosaures Natrium ganz unwirksam sind. Methylenblau nimmt gegen Hefe eine eigenartige Stellung ein; es wird durch sie reduziert; in noch höherem Mass zeigt diese Eigenschaft der Hefepressaft, doch darüber später. Die Resultate von Kurzmann werden durch diese Versuche bestätigt. Die Hefe ist also widerstandsfähiger als andere bisher untersuchte Pilze, besonders als Achorion Schönleinii und Penicillium glaucum. Es soll später noch genaueres über die Vergleichspunkte gesagt werden.

Versuche mit Acetondauerhefe (Zymin).

Ein zwingender Beweis für eine photodynamische Einwirkung auf die Acetondauerhefe konnte durch die verschiedenen Versuche nicht erbracht werden, wenn sie eine solche auch immerhin höchst wahrscheinlich machen. Die Ursache davon liegt offenbar in der leichten Zerstörbarkeit des Fermentes, sobald es nicht mehr durch die lebende Membran geschützt ist. Die Versuche sollen bei niederer Wintertemperatur fortgesetzt werden.

Versuche mit dem Hefepressaft.

Die Versuche mit dem Hefepressaft wurden auf den Winter verschoben, weil bei der hohen Temperatur des Sommers das Resultat wahrscheinlich nicht besser als das der Zyminversuche gewesen wäre. Sie führten denn auch bei günstigen Umständen zu einem sicheren Ergebnis.

Den Hefepressaft erhielt ich durch die Liebenswürdigkeit von Herrn Professor Martin Hahn aus dem Hygienischen Institut der hiesigen Universität. Herr Professor Hahn unterstützte mich auch mit guten Ratschlägen, wofür ich ihm an dieser Stelle herzlich danken möchte. Der Pressaft wird,

wie schon erwähnt, hergestellt nach einem von E. Buchner erfundenen Verfahren. Es wird Hefe mit Kieselgur und Quarz innig vermengt und verrieben. Dadurch werden die Zellenmembranen zerrissen; durch starke Pressen wird dann der Saft herausgepresst.[1]) Es wurde zu meinen Versuchen Münchner untergärige Bierhefe von Schroder (Landwehrstrasse 45) verwendet.

Der Saft war eine trübe in dünner Schicht schon undurchsichtige Flüssigkeit, die sich auch durch längeres Zentrifugieren nicht wesentlich aufklären liess; auch ein Filtrationsversuch durch ein Berkefeldfilter misslang. Deshalb wurden grosse Erlenmayer'sche Kolben genommen, 20 ccm ganz frischer Pressaft hineingegeben. Er bedeckte den Boden in einer ca. 2 mm dicken Schicht, dazu kam 1 ccm $^1/_{100}$ molekulare Farbstofflösung und zwei Tropfen Toluol, in die Kontrollgläser statt des Farbstoffes 1 ccm destilliertes Wasser. Die Kolben wurden mit einem Korkstöpsel verschlossen. An einem klaren Wintertag wurden diese Gläser so aufgehängt, dass der Boden horizontal stand, und der Sonne ausgesetzt; daneben wurde noch ein mit etwas Wasser gefüllter Erlenmayer'scher Kolben aufgehängt, in dem sich ein Thermometer befand, von welchem die Temperatur abgelesen wurde. Die Kontrollkolben wurden daneben aufgestellt und mit einem schwarzen Tuch lichtdicht bedeckt; über Nacht kamen alle Kolben in den Eisschrank, am andern Morgen wieder in die Sonne. Die Belichtung dauerte am ersten Tag von 12—5 Uhr, am zweiten von 8 Uhr 30 morgens bis 5 Uhr abends, also im ganzen $13^1/_2$ Stunden. An beiden Tagen war das schönste kalte Winterwetter. Die am Thermometer abgelesenen Temperaturen waren am ersten Tag: um 2 Uhr + 9° Celsius, um 5 Uhr

[1]) Genaue Beschreibung der Herstellung siehe E. und M. Buchner und M. Hahn „Die Zymase-Gärung", Seite 58.

+ 3° Celsius, um 7 Uhr + 2° Celsius. Im Eisschrank + 8° Celsius. Am zweiten Tage waren die Temperaturen

um	9	Uhr 30	+ 4°	Celsius
„	10	„ 30	+ 4°	„
„	11	„ 30	+ 4°	„
„	2	„ 30	+ 3°	„
„	4	„	+ 2,5°	„
„	5	„	+ 2,5°	„

Der Pressaft wurde mikroskopisch untersucht, es fanden sich nur ganz vereinzelte Hefezellen darin. Er zeigte nicht unbeträchtliche Selbstgärung, die durch ein in den Brutschrank gebrachtes Gärröhrchen konstatiert wurde. Da aber für alle Versuche derselbe Pressaft genommen wurde, stört sie nicht, ausserdem war durch die niedere Temperatur während der Exposition jede Gärung unterdrückt. Bei diesem Versuch wurden als Farbstoffe verwendet: dichloranthracendisulfosaures Natrium, Eosin und Phenosafranin, 1 ccm $^1/_{100}$ molekulare Lösung auf 20 ccm Pressaft. Die Flüssigkeiten kamen dann nach der Belichtung in Meissl'sche Gärkölbchen mit fünf Tropfen Toluol und 20 ccm einer 40%igen Zuckerlösung. Es wurde etwas geschüttelt und dann wie bisher der Gärungseffekt festgestellt. Der Brutschrank zeigte zwischen 23° und 24° Celsius. Der Erfolg bewies, dass Eosin und Phenosafranin, aber ebensosehr auch das dichloranthracendisulfosaure Natron eine starke photodynamische Wirkung aufwiesen, wenn sie auch die Gärung nicht ganz unterdrücken konnten; die Stoffe als solche hemmten diese nur wenig, das Licht als solches fast gar nicht.

Tabelle V.

20 ccm Pressaft, 1 ccm $^1/_{100}$ molekulare Farblösung, 20 ccm 40%ige Traubenzuckerlösung, 5 Tropfen Toluol.

Gewichtsverlust in Milligrammen:

nach Stunden	Kontrollversuch		Dichloranthracen		Eosin		Phenosafranin	
	belichtet	dunkel	belichtet	dunkel	belichtet	dunkel	belichtet	dunkel
1	9,1	70,1	2,4	8,0	1,7	7,5	4,6	10,7
15	251,7	275,7	13,6	135,0	21,4	145,6	26,1	158,1
24	296,7	313,1	15,1	162,2	24,6	182,9	35,8	181,7
39	317,2	332,2	19,3	180,1	29,2	206,6	41,6	195,6
47	318,7	335,5	19,8	183,9	32,2	213,2	42,2	200,4

Die Prozentzahlen betragen für die belichteten Lösungen:

Stunden	Kontroll-versuch	Dichlor-anthracen	Eosin	Phenosafranin
15	91,3	10,1	14,7	16,2
24	91,2	9,3	13,5	19,7
39	95,5	10,7	14,1	21,2
47	93,2	10,8	14,7	21,1

Auffallend ist besonders das Verhalten des dichloranthracendisulfosauren Natriums, welches bei Hefe gar keine, dagegen hier sehr starke Wirkung zeigte.

Beim zweiten Versuch wurde deshalb dieser Farbstoff wieder verwendet, dazu noch Fluorescein, Rose bengale und Methylenblau. Sonst wurde der Versuch genau wie der erste durchgeführt. Der Pressaft zeigte mikroskopisch etwas zahlreichere intakte Hefezellen, doch auch nicht mehr als 2—3 in jedem Gesichtsfeld bei 200facher Vergrösserung.

Die äusseren Verhältnisse waren bei diesem Versuche insofern etwas andere, als das Wetter nicht so hervorragend günstig war. Um 9 Uhr 30 wurden die Kolben aufgehängt, die Temperatur war hoch (+ 8°), auch war um 10 Uhr 30, der Himmel bewölkt. Erst nachmittags kam zeitweise die Sonne, die Temperatur betrug um 2 Uhr + 8, um 5 Uhr

+ 9° Celsius. Bei Eintritt der Dunkelheit kurz nach 5 Uhr wurden die Kolben abgenommen und mit Schnee umgeben. Am Morgen zeigte das Thermometer knapp + 1/2° Celsius. Es folgte ein schöner Tag bei blauem Himmel; um 1/2 9 Uhr wurden die Kolben wieder dem direkten Sonnenlicht ausgesetzt, die Temperatur stieg an, um 10 Uhr 30 zeigte das Thermometer + 8,5° Celsius, um 11 Uhr 30 10°. Da zu befürchten war, dass eine störende Wirkung der Wärme eintreten könnte, wurden jetzt die Flüssigkeiten in die Gärkölbchen gebracht, hierauf kamen sie in den Brutschrank. Die Selbstgärung, die in zwei gewöhnlichen Saccharometern geprüft wurde, war ziemlich kräftig im Brutschrank, nur 3—4 ccm aber wurden in dem neben dem belichteten Kolben aufgestellten Saccharometer entwickelt. Die Lufttemperatur war im Schatten am zweiten Tag während der ganzen Belichtungsdauer unter 0°.

Um aber genauen Aufschluss über die Temperaturverhältnisse in den Farblösungen zu erhalten, wurde folgende Anordnung getroffen: fünf Erlenmayer'sche Kolben wurden mit wässrigen Lösungen der bei den Versuchen verwendeten Farbstoffe gefüllt, die Konzentration war wie bei diesen 1 ccm 1/100 molekulärer Lösung auf 20 ccm Wasser. Dazu kam noch der Kontrollkolben mit Wasser, der bei den Temperaturbestimmungen der Pressaftexperimente verwandt worden war. Die Thermometer wurden vorher miteinander bei 10° Celsius verglichen; sie zeigten keine Differenzen. Die Kolben wurden nun in Schnee verpackt und gewartet, bis sämtliche Flüssigkeiten eine Temperatur zwischen 0 und 1° angenommen hatten. Dann wurden sie gut abgetrocknet und am gleichen Platz wie die Pressaftkolben aufgehängt. Dieser Versuch wurde am Tag nach dem zweiten Versuch mit Pressaft ausgeführt. Die Temperatur der Luft war an diesem Tage über Null, der Himmel vollständig wolkenlos. Es wurden dabei folgende Temperaturen erreicht:

Tabelle VI.

Lösung	Temperatur in Celsius + Zeit			
	11 Uhr 15	11 Uhr 45	12 Uhr 15	12 Uhr 45
Wasser	0—1	7,75	11,0	12,5
Dichloranthracen	0—1	10,0	13,5	15,0
Eosin	0—1	10,0	12,0	16,0
Phenosafranin .	0—1	13,75	15,0	17,5
Fluorescein . .	0—1	10,0	13,5	15,0
Rose bengale . .	0—1	9,9	14,0	16,0

Beim ersten Pressaftversuch kommt der Einfluss der Temperatur nicht in Frage, da infolge der niedrigen Aussentemperatur das Wasser trotz der Sonnenbestrahlung von 8° Anfangstemperatur im Eisschrank während der Belichtung auf 2,5° abgekühlt wurde. Beim zweiten Versuch käme Wärmewirkung in Betracht, aber nur während der drei letzten Stunden der Belichtung. Als das Wasser im zweiten Versuch 10° Celsius zeigte, wurde er abgebrochen; nach dem eben angeführten Versuch wären die fluoreszierenden Lösungen vielleicht höchstens 2—3° Celsius wärmer gewesen als der belichtete Kontrollversuch. Dieser Unterschied würde aber die Gärkraft in der kurzen Zeit doch nur sehr wenig beeinflussen.[1]) Die Temperaturunterschiede bei dem Versuche mit dem Pressaft waren aber sicher kleiner, denn die absorbierende Farblösung war weit geringer an Menge, die Luft war kälter. Wäre die Wärme das schädigende Agens, so hätte der also belichtete Kontrollversuch die schädliche Wirkung im gleichen Masse zeigen müssen.

Der Versuch ergab nun, dass Rose bengale die Gärung unterdrückt hatte, Dichloranthracen hatte dieselbe erheblich

[1]) Über den Einfluss der Temperatur auf den Pressaft. Siehe J. und E. Buchner und M. Hahn, „Die Zymasegärung". Seite 98 und 99.

beeinträchtigt, Fluorescein hatte auch gewirkt, aber schwächer. Wenn die Wirkung des Dichloranthracen nicht so intensiv war wie beim ersten Versuch, so lag das an den ungünstigen Beleuchtungsverhältnissen.

Methylenblau wurde in dem Moment, in dem es dem Pressaft zugesetzt wurde, entfärbt. Es ist dieser Vorgang auf einen Reduktionsprozess zurückzuführen.[1]) Später nahmen besonders die obersten Schichten der Flüssigkeit wieder einen grünlich-graublauen Farbenton an, der aber nicht konstant war; offenbar wird durch die atmosphärische Luft wieder ein Teil zum Methylenblau oxydiert, um dann wieder vom Pressaft reduziert zu werden. Der Gärungsvorgang selbst wurde hierdurch erheblich beeinträchtigt. (Um etwa 50% gegen den Kontrollversuch.) Photodynamische Wirkung war, weil die Flüssigkeit ja keinen Farbstoff mehr enthielt, natürlich nicht zu erwarten.

Tabelle VII.

20 ccm Pressaft $^1/_{100}$ molekulare Farblösung, 20 ccm 16%ige Traubenzuckerlösung, 5 Tropfen Toluol, Temperatur 23,5 bis 25° Celsius.

Gewichtsverlust in Milligrammen:

nach Stunden	Kontrollversuch		Dichloranthracen		Fluorescein		Rose bengale		Methylenblau	
	belichtet	unbelichtet	belichtet	unbelichtet	belichtet	unbelichtet	belichtet	unbelichtet	belichtet	unbelichtet
$2^1/_2$	30,5	32,5	17,4	34,3	19,2	30,5	0	64,7	28,9	39,4
6	86,3	99,4	20,0	81,9	63,6	95,6	0	126,7	68,0	76,0
20	241,5	269,8	35,3	222,1	139,6	242,4	0	328,1	120,2	131,8
30	293,9	306,2	43,2	264,6	156,2	295,7	0	351,1	123,0	146,2
43	321,5	324,0	52,0	284,7	162,2	352,2	0	368,1	137,0	155,0

[1]) Genaueres siehe „Die Zymasegärung“ von J. und M. Buchner und M. Hahn. Seite 244. u. f.

Die Prozentzahlen betragen demgemäss:

Stunden	Kontrolle	Dichlor-anthracen	Fluorescein
$2^1/_2$	93,8	50,5	62,9
6	86,3	24,5	60,2
20	89,5	16,0	57,6
30	96,0	16,3	52,8
43	99,2	18,3	46,1

Als Gesamtergebnis erhielt ich, dass, ähnlich wie andere bis jetzt untersuchte Pilze, auch die Hefe von den photodynamischen Substanzen beeinflusst wird. Stark wird auch deren Ferment, die Zymase, beeinflusst. Ganz vernichtet wurde es aber in den angewendeten Konzentrationen nur von einer Substanz, dem Rose bengale; Hefe verhält sich in seiner Empfindlichkeit den verschiedenen Substanzen gegenüber wie die andern bisher untersuchten Fermente, Invertin, Diastase und Labferment. Auch hier zeigte das Fluorescein selbst nur schwache Wirkung. Das Rose bengale, das nur noch in seiner Wirkung auf Labferment untersucht wurde, zeigt auch bei diesem die stärkste Wirkung von allen untersuchten Substanzen. Bemerkenswert ist vor allem das Verhalten des dichloranthracendisulfosauren Natrons, worauf schon wiederholt aufmerksam gemacht wurde. Die Hefezelle selbst beeinflusst es wenig oder gar nicht, wie die andern untersuchten Pilze. Das Ferment selbst wird von ihm in hohem Masse geschädigt, ganz wie auch andere Fermente. Die Vermutung v. Tappeiners, dass die photodynamische Wirkung innerhalb der Zellen stattfindet, dass also die Stoffe, welche von der Zellmembran nicht oder nur schlecht durchgelassen werden, aus diesem Grunde bei Bakterien keine Wirkungen erzielten, während sie sonst (besonders auch Paramäcien gegen-

über) sehr kräftig sich erwiesen, bekommt durch die vorliegenden Versuchsergebnisse eine neue Stütze.[1]) Solange das Ferment in der lebenden Zelle geborgen war, erfolgte keine oder nahezu keine Schädigung, wie es aber in Pressaft in freier Lösung sich befand, trat die Schädigung wieder in hohem Masse auf.

Zum Schluss drängt es mich, meinem hochverehrten Lehrer Herrn Professor Dr. H. v. Tapppeiner für die gütige Anregung zu dieser Arbeit und für seine ständige Leitung desselben, sowie Herrn Privatdozenten Dr. A. Jodlbauer für die vielfache Unterstützung dabei meinen tiefsten Dank zum Ausdruck zu bringen.

---

[1]) Wirkung der fluoreszierenden Stoffe auf Spalt- und Fadenprobe von H. v. Tappeiner und A. Jodlbauer. Deutsches Archiv f. klinische Medizin. Bd. 84. S. 5, 24 u. ff.

Literatur.

1. Die „Zymasegärung", Untersuchungen über den Inhalt der Hefezellen und die biologische Seite des Gärungsproblems von E. Buchner, M. Buchner und M. Hahn. Verlag von R. Oldenbourg, München und Berlin 1903.
2. Über die Wirkung der photodynamischen Stoffe auf Protozoen und Enzyme von H. v. Tappeiner und A. Jodlbauer. (Deutsches Archiv für klinische Medizin. Bd. 80, S. 427 u. f.)
3. Wirkung der fluoreszierenden Stoffe auf Spalt- und Fadenpilze von H. v. Tappeiner und A. Jodlbauer. (Deutsches Archiv für klinische Medizin. Bd. 84, S. 529 u. ff.
4. Über die Wirkung photodynamischer Substanzen auf Labferment. Inaug.-Dissert. von H. Riegner, München 1904.
5. Weitere Untersuchungen über die Wirkung photodynamischer Stoffe auf Diastase. Inaug.-Dissert. von Fritz Liebl, München 1905.
6. Weitere Untersuchungen über die Wirkung fluoreszierender Stoffe auf Labferment. Inaug.-Dissert von Walter Quiring, München 1905.

Lebenslauf.

Ich, Franz Joseph Locher, wurde geboren am 11. Februar 1881 als Sohn des Fabrikanten Franz Locher und seiner Frau Bertha, geb. Bader. Ich besuchte die Volksschule, dann die Lateinschule meiner Vaterstadt Tettnang, hierauf war ich fünf Jahre Zögling im Pensionat Stella Matutina zu Feldkirch, kam dann in die 9. Klasse des Kgl. Württembergischen Gymnasiums zu Ravensburg, wo ich im Jahre 1899 maturierte. Ich studierte zunächst zwei Semester Philosophie in Innsbruck, dann seit 1900 Medizin in Tübingen, wo ich im Frühjahr 1903 die ärztliche Vorprüfung bestand.

Ich begab mich dann nach München, im Wintersemester 1903/1904 nach Berlin, im nächsten Semester wieder zurück nach München, dortselbst blieb ich und beendete die ärztliche Prüfung am 15. Januar 1906.